

5BSKM013 古川翔太
指導教員 関根嘉香

1. 緒言

近年、ヒト皮膚表面から放散する生体ガス（皮膚ガス）の存在が明らかになり、臨床検査における非侵襲・非観血的に採取が可能な生体サンプルの一つとして期待されている。演者らはパッシブ・フラックス・サンプラー（PFS）法^{1,2)}により、皮膚ガスに含まれるアンモニアとヒトの身体的・生理的状态との関連を調査している。臨床検査への応用として、重度熱傷患者および肝疾患患者の入院時の皮膚ガスをモニタリングし、皮膚ガス中アンモニアは熱傷創部の治癒程度³⁾および肝疾患のバイオマーカーとなる可能性を見出した。一方、アンモニアは疲労やストレスのバイオマーカーとなる可能性が示唆されている⁴⁾。そこで本研究では、PFS法を用いてストレス負荷が皮膚ガス中アンモニアに与える影響を調査した。また、過去の報告では身体の一部からの捕集のみであり、全身から捕集した例はない。本研究では、ヒト全身におけるアンモニア放散量の分布および全身放散量を調査した。

2. PFSの作成および捕集・分析方法

PFSの捕集材は2%リン酸1%グリセリン/メタノール溶液をセルロースろ紙にDipping法で含浸後、減圧乾燥させて作製した。PFSを被験者の各捕集部位に装着し、皮膚ガス中アンモニアを捕集した。捕集後、超純水8mLにて振とう抽出し、イオンクロマトグラフ法により定量した。得られた捕集量 W (ng)から捕集時間 t (h)と捕集面積 S (cm²)よりアンモニア放散フラックス E (ng cm⁻² h⁻¹)を求めた。

$$E = \frac{W}{S \cdot t} \quad \dots (1)$$

本研究は、東海大学湘南校舎「ヒトを対象とする研究」倫理委員会の承認を得て実施した。

3. 実験

3.1 全身放散量の測定

被験者は健常ボランティア10名（男性5名：21～23歳、女性5名：21～23歳）とし、実験中は室内で安静とした。捕集部位は体表面を13区分（頭部、頸

部、胸部、腹部、背部、腰部、上腕部、前腕部、手掌部、臀部、大腿部、下腿部、足部）にし、それぞれの部位にPFSを1時間取り付け、皮膚ガスを捕集した。日本人の青年、性別および体格差を考慮した蔵澄らの関係式⁵⁾を用い、被験者の体重 B (kg)および身長 H (cm)から全体表面積 S (cm²)を推定し、それぞれの部位の割合から各部位の面積 S_i (cm²)を求めた。

$$S_i = 100.315W^{0.383}H^{0.693} \quad \dots (2)$$

その後、部位毎の放散フラックス E_i (ng cm⁻² h⁻¹)と部位別面積 S_i (cm²)を乗じて部位別放散速度 M_i (ng h⁻¹)を求めた。そして、部位別放散速度 M_i の和が全身放散速度 M (ng h⁻¹)となる。

$$M = \sum_{i=1}^{13} M_i = \sum_{i=1}^{13} E_i S_i \quad \dots (3)$$

3.2 ストレス負荷時の測定

始めに前腕部および手掌部でストレス負荷時の測定を行った。被験者は健常ボランティア男性3名（21～24歳）、女性3名（21～24歳）とし、実験中は室内で安静とした。それぞれの部位にPFSを20分間取り付け、皮膚ガスを捕集した。Fig.1に実験デザインを示す。捕集回数は5回とし、ストレス負荷前（1回）、負荷中（1回）、負荷後（3回）とした。精神的ストレス負荷は内田クレペリン検査を行った。また、前腕部および手掌部の発汗量と心拍数の測定も行った。

次に全身におけるストレス負荷時の測定を行った。被験者は健常ボランティア10名（男性5名：21～24歳、女性5名：21～24歳）とした。体表面を13区分にし、Fig.1と同様な実験デザインで行った。部位別放散量および全身放散量は3.1と同様に算出した。

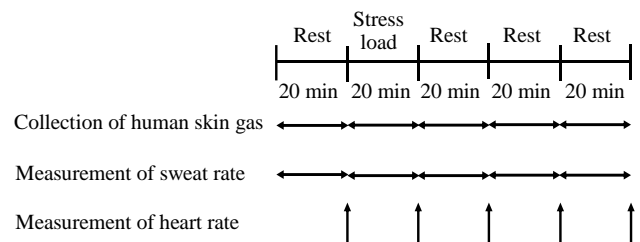


Fig.1 Experimental design of the study

4. 結果および考察

4.1 全身放散量の測定

Fig.2 に被験者間の全身放散量の比較を示す。アンモニアの全身放散量は 1 人当たり 2.9~12 mg h⁻¹ であり、1 人当たり平均 5.9±3.2 mg h⁻¹ であった。2 人の男性被験者 (M1、M4) では高い放散量が見られた。アンモニアの大部分は代謝反応によって生成され、肝臓の尿素サイクル中で尿素に変換され腎臓によって尿中に排泄される。毎日の尿素の排泄量は、窒素原子として 0.5 mol day⁻¹ に等しい約 30g day⁻¹ であることが知られている。それに対して、アンモニアの皮膚排泄量は、上記で得られた平均値を用いた場合、0.14 g day⁻¹、窒素原子として 0.0083 mol day⁻¹ となり、尿素として排泄されたものの 1.6% に相当する。一方、アンモニアはヒトの呼気にも存在することが知られている。Mochalski ら⁶⁾によると、呼気中アンモニアの割合は 0.00014 mol day⁻¹ と推定している。これは、呼気よりも皮膚から放散するアンモニアの方が室内環境の臭起源として重要であることを意味している。

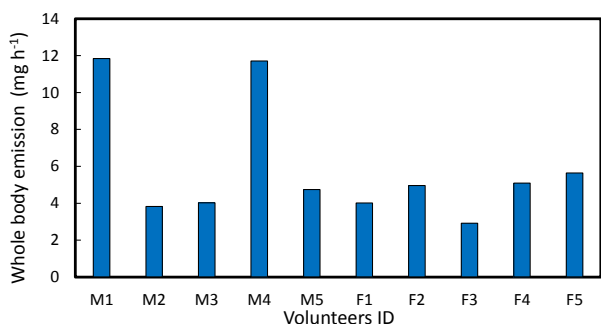


Fig.2 The whole body emission rate of ammonia from human skin surface of ten healthy young volunteers estimated in this study. M1-M5: male, F1-F5: female

4.2 ストレス負荷時の測定

Fig.3 に全被験者の前腕部における放散フラックスおよび心拍数を示すストレス負荷中に放散フラックスが上昇した。負荷終了後に最大値を示し、時間の経過と共に減少し負荷前と同等の値を示した。心拍数は負荷中に最大値を示し、その後減少し負荷前と同等の値を示した。これはストレスに対する生体防御反応が働いた結果だと考えられる。Fig.4 に手掌部における放散フラックスおよび発汗量を示す。ストレス負荷中に放散フラックスおよび発汗量が増加したが、負荷後も放散フラックスは高いレベルであった。しかし、発汗量は負荷後に減少し負荷前と同

等な値を示した。ヒトは緊張などストレスを感じると精神性発汗が起こり、主に手掌や足裏に発汗が生じる。よって、精神性発汗が放散フラックスに影響を与えたと考えられる。前腕部は手掌部と比較して汗腺が少なく発汗は起こらなかった。

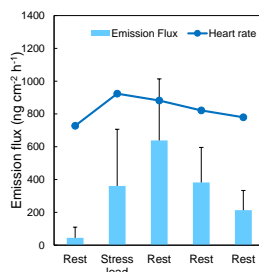


Fig.3 Variations of emission flux of ammonia emanating from forearm and heart rate of volunteers under mental stress load

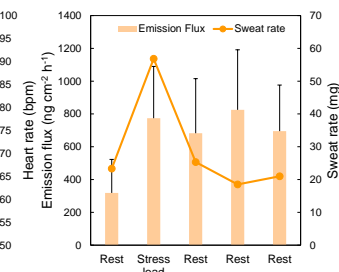


Fig.4 Variations of emission flux of ammonia emanating from palm and sweat rate of volunteers under mental stress load

Fig.5 に性別別の全身放散量および心拍数を示す。放散量は男性が上昇傾向であったが、女性では減少傾向が見られた。このことから男性ではストレスを反映していると考えられる。しかしながら、男性、女性共に生体防御反応である心拍数に類似した変動を示した。このことからアンモニア放散量はストレス負荷量を反映していると考えられる。

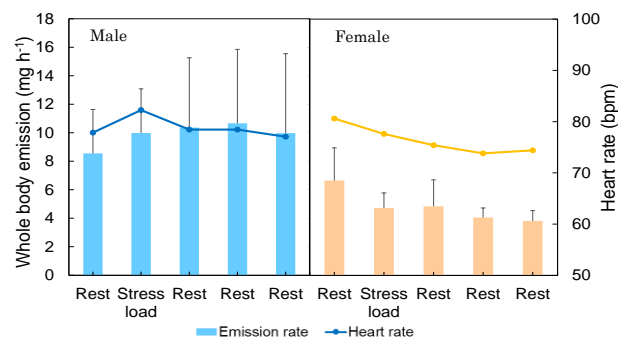


Fig.5 Comparison of emission rate of ammonia emanating from 13 body parts of ten volunteers under mental stress load

5. まとめ

皮膚からのアンモニア排泄量は尿素として排泄されたものの 1.6% に相当し、室内環境の臭気源として呼気よりも皮膚ガスが重要であることがわかった。また、皮膚ガス中アンモニアはストレス負荷により増加し、今後はアンモニアをバイオマーカーとして簡便なストレス評価ができる可能性が示唆された。

【参考文献】 (1) Sekine Y., Toyooka S., Watts S. F.: *J. Chromatogr. B*, 859, 201-207(2007) (2) Kimura K., Sekine Y. et al.: *J. Chromatogr. B*, 1028, 181-185(2016) (3) Kimura K., Sekine Y., Umezawa, K. et al.: *J. Japan Assoc. on Odor Environ.*, 47(6), 421-429(2016) (4) 古川翔太ほか、平成 28 年室内環境学会学術大会講演要旨集, 204-205(2016) (5) 藏澄美仁ほか、日生気誌, 31 巻 1 号, 5-29(1994) (6) Mochalski P., Unterkofler K. et al., *Trends in Anal Chem* 68, 88-106(2015)